



USPTO DATE-STAMPED FILING RECEIPT



In re Application of: :
: Examiner: Stuart F. Baum
Luc VARIN, et al. :
: Group Art Unit: 1638
Application No.: 10/019,931 :
: 214187, 00500
Filed: May 10, 2002 :
: Date: July 28, 2004

For: METHOD, COMPOSITIONS AND GENETIC SEQUENCES FOR
MODULATING FLOWERING PLANTS, AND PLANTS GENETICALLY
MODIFIED TO FLOWER EARLY AND TARDILY

1. Substitute Amendment
2. Three attachments: Declaration, JP 02-092220 and USPTO date-stamped receipt

Date Prepared: May 19, 2005

By: GMV:RWH/dap

DOCKETE



DECLARATION FOR PATENT APPLICATION

As a below named inventor, I (we) hereby declare that my (our) residence, past or present address and citizenship are as stated below next to my (our) name. I (we) believe that I am (we are) the original, first and sole inventor(s) (If only one name is listed below) or an original, first and joint inventor (if plural names are listed below) of the subject matter which is claimed and for which a patent is sought on the invention (Design, if applicable) entitled: **METHODS, COMPOSITIONS AND GENETIC SEQUENCES FOR MODULATING FLOWERING IN PLANTS AND PLANT CELL CULTURES EARLY AND LATELY**

the specification of which (check one): ☐ is attached hereto; ☒ was filed on May 10th, 2003 as application serial No. 10/018,831 and was amended on (or amended through) July 28th, 2004 (if applicable); ☐ was filed on _____ as International Application (PCT) No. _____ (if applicable). I (we) hereby state that I (we) have reviewed and understand the contents of the above-identified specification, including the claims, as amended by any amendment(s) referred to above. I (we) acknowledge the duty to disclose information known by me (us) to be material to the invention in accordance with Title 37, Code of Federal Regulations, § 1.56(a). I (we) hereby claim foreign priority benefits under Title 35, United States Code § 119 of any foreign application(s) for patent or inventor's certificate listed below and have also identified below any foreign application for patent or inventor's certificate having a filing date before that of the application which priority is claimed.

I (We) hereby claim foreign priority benefits under Title 35, United States Code § 119 of any foreign application(s) for patent or inventor's certificate listed below and have also identified below any foreign application for patent or inventor's certificate having a filing date before that of the application which priority is claimed.

Prior Foreign Application(s)

(Number)	(Country)	(Day/Month/Year Filed)
2,274,873	CANADA	08/07/1998

Priority Claimed

YES	NO
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

I (we) hereby claim the benefit under Title 35, United States Code, § 120 of any United States application(s) listed below and, insofar as the subject matter of each of the claims of this application is not disclosed in the prior United States application in the manner provided by the first paragraph of Title 35, United States Code § 112, I (we) acknowledge the duty to disclose material information as defined in Title 37, Code of Federal Regulations, § 1.56 which occurred between the filing date of the prior art application and the national or PCT international filing date of this application.

(Appl. No.)	(Filing date)	(Status - Patented, Pending or Abandoned)

I (we) hereby declare that all statements made herein of my (our) own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of this application or any patent issued thereon.

Best Available Copy



Page 2

POWER OF ATTORNEY: I (we) hereby appoint the attorney associated with the following customer number, to prosecute this application and transact all business in the Patent and Trademark Office connected therewith.

Send correspondence to:

Direct telephone call to:

Custom or number

KATTEN MUCHIN
ZAVIS ROSENMAN
1036 Thomas Jefferson Street, N.W.
East Lobby, Suite 700
Washington, DC 20007-6201
U.S.A.

202.628.3500

--

Full name of second inventor Safinder GIDDA	Citizenship Canadian
Residence Address-Street 84, Green Bank Drive	Post Office Address-Street 84, Green Bank Drive
City Cambridge	City Cambridge
State or Country Zip Ontario, CANADA N1G 2B5	State or Country Zip Ontario, CANADA N1G 2B5
Date April 4 / 05	Signature Safinder K. Gidra

Best Available Copy

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-092220

(43)Date of publication of application : 03.04.1990

(51)Int.Cl.

A01H 4/00
 A01N 37/36
 A01N 37/42
 C12N 5/04
 // A01G 1/00
 (A01N 37/42
 A01N 37:36)

(21)Application number : 63-242432

(22)Date of filing : 29.09.1988

(71)Applicant : JAPAN TOBACCO INC

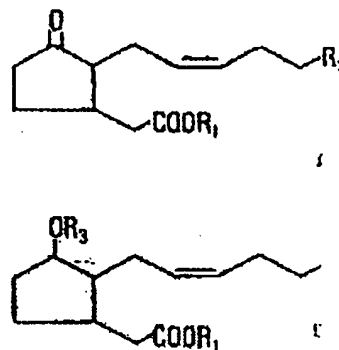
(72)Inventor : TAZAKI HIROYUKI
 TSUJINO YASUKO
 MATSUKI TOMOKO
 KODA YASUNORI
 YOSHIMURA TERUHIKO

(54) POTATO TUBER FORMING AND INDUCING AGENT AND METHOD FOR FORMING AND INDUCING POTATO TUBER

(57)Abstract:

PURPOSE: To surely form and induce large amounts of potato tuber by adding ascorbic acid and jasmonic acid compounds to a culture medium.

CONSTITUTION: A stem fragment containing a terminal bud or nod reared by shoot tip culture or rooting transfer method of potato plant is reared in tissue culture medium (e.g. Linsmaier & Skoog) for about 4 weeks to provide an aseptic shoot. 10-5000ppm ascorbic acid and 0.3-12ppm jasmonic acid compound expressed by formula I or formula II (R₁ and R₂ are H or 1-10C alkyl; R₂ is H, OH, O-D-glucopyranose) and as necessary 0.5-10ppm cytokinins compound (e.g., kinetin) used as a potato tuber-forming and inducing agent are added to a culture medium containing the above-mentioned aseptic shoot and the shoot is cultured for 2-4 weeks to form potato tuber at the nod of aseptic shoot.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the
 examiner's decision of rejection or application converted
 registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

Best Available Copy

⑤ 日本国特許庁(JP) ⑥ 特許出願公開
 ⑦ 公開特許公報(A) 平2-92220

⑧ Int. Cl.⁸ ⑨ 識別記号 ⑩ 片内整理番号 ⑪ 公開 平成2年(1990)4月3日
 A 01 H 4/00 8502-2B
 A 01 N 37/38 8779-4H
 8515-4B C 12 N 5/00 F 8
 審査請求 未請求 請求項の数 5 (全1頁)

⑫ 発明の名称 馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び同形成誘導方法

⑬ 特 願 昭63-242432

⑭ 出 願 昭63(1988)9月29日

⑮ 発 明 者 田 崎 弘 之 神奈川県横浜市緑区梅が丘6-2 日本たばこ産業株式会社
 ⑯ 発 明 者 辻 野 泰 子 神奈川県横浜市緑区梅が丘6-2 日本たばこ産業株式会社
 ⑰ 発 明 者 松 木 知 子 神奈川県横浜市緑区梅が丘6-2 日本たばこ産業株式会社
 ⑱ 発 明 者 幸 田 泰 則 北海道札幌市白石区もみじ台西7丁目4番4号
 ⑲ 発 明 者 吉 原 昭 彦 北海道札幌市豊平区西園四条14丁目4番43号
 ⑳ 出 願 人 日本たばこ産業株式会社 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号

最終頁に続く

要 約

1. 発明の名称

馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び同形成誘導方法

2. 特許請求の範囲

(1) アスコルビン酸とジャスモン酸誘導化合物とを有効成分として含有することを特徴とする馬鈴薯塊茎形成誘導剤。

(2) ジャスモン酸誘導化合物が12-0-0-D-ゲルコピラノシロキネージャスモン酸、メチルジャスモン酸、ジャスモン酸又は8-ヒドロキレージャスモン酸である請求項1の馬鈴薯塊茎形成誘導剤。

(3) サイトカイニン誘導化合物をも有効成分として含有する請求項1又は2の馬鈴薯塊茎形成誘導剤。

(4) サイトカイニン誘導化合物がカイネチンである請求項3の馬鈴薯塊茎形成誘導剤。

(5) 組織培養培地中に請求項1、2、3又は4の馬鈴薯塊茎形成誘導剤を添加することによって得られる馬鈴薯塊茎形成誘導方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び同形成誘導方法に関する。特に、組織培養方法を用いて馬鈴薯塊茎形成誘導する際に有用な馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び同形成誘導方法に関する。

(従来の技術)

従来、馬鈴薯の組織培養によって得られる塊茎は、馬鈴薯の組織培養方法に用いることが注目されている。この方法においては、馬鈴薯塊茎を組織培養して、塊茎を形成誘導する点にポイントがある。

塊茎を形成誘導するのに適する組織培養培地の組成が、「国特許公報昭和63年秋単大発表」第268、227頁(花巻市、秋田 県、高山 県)において、既に提案されている。

同特許公報では、まず、組織培養培地であるラゼラスクーグ(Murasako-Skooog)培地のシェークロス濃度を3%に調整した培地で組織培養して、繁殖シュートを育成(Phase 1)し、次に、

Best Available Copy

特開平2-82220 (2)

同培養のシェーククロス濃度と高減産(8%)に制約した培養で組織培養(Phase 2)として、細胞の増殖性を増大させたことが報告されている。

この方法では、Phase 1で育成された細胞シートをPhase 2の培養に移植するか、Phase 2の培養に取り替えることを必要とし、この際、多大の労力を要する点に課題があった。

(発明が解決しようとする課題)

本発明は、従来技術に見られる上記課題を解決するとともに、一層有効な馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び同剤を用いた馬鈴薯塊茎形成誘導方法を提供せんとするものである。

(課題を解決するための手段)及び(作用)

本発明は、アスコルビン酸とジャスモン酸誘導化合物とを有効成分として含有することと特徴とする馬鈴薯塊茎形成誘導剤、アスコルビン酸とジャスモン酸誘導化合物とサイトカイニン誘導化合物とを有効成分として含有することと特徴とする馬鈴薯塊茎形成誘導剤及び前記二剤のいずれかを組織培養培養液中に添加することと特徴とする馬鈴薯塊茎

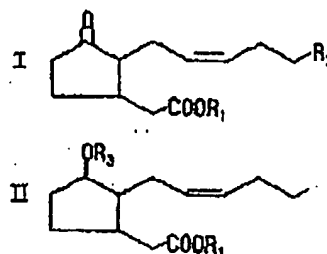
モン酸、メチルジャスモン酸、ジャスモン酸又は6-ヒドロキシジャスモン酸である。

本発明に用いられるサイトカイニン誘導化合物とは、カイネチン、セコルアミノブリン、フェニルアミノブリン、ベンジルアミノブリン、シクロヘキシルアミノブリン、オクタロベンジルアミノブリン、オクタチルベンジルアミノブリン、ジフェニルアミン、4-ヒドロキシフェニルアミン、4-ベンジルアミノベンズイミダゾール、8-イソペンタニルアミノブリン、トランス-ゼアチン、レス-ゼアチン、トランス-ゼアチンリボシド、トランス-ゼアチンモノリボシド、ジヒドロゼアチンなどである。

馬鈴薯塊茎を形成誘導するためには、まず、馬鈴薯塊茎の頂点培養又は塊茎誘導により育成した頂芽又は節を含む箇所(以下、これを「切片」という。)を組織培養培養液中で約2週間育成して、細胞シートを得る。次に、細胞シートの培養中に、アスコルビン酸100~5000ppm、好ましくは500~2000ppmとジャスモン酸誘導化合物0.3~12ppm、

好ましくは1~5ppmとを添加し、さらに3~4週間培養すると細胞シートの下に塊茎が形成誘導されるのである。

本発明に用いられるジャスモン酸誘導化合物とは、次の一般式I又はIIで表される化合物である。



なお、上記一般式中
 R_1 、 R_2 は、H又はOが1~10のア
 ルキル基
 R_2 は、H、OH又は α - β -D-グル
 コピラノース
 を示す。

上記ジャスモン酸誘導化合物は、好ましくは、1
 2- β - α -D-グルコピラノシロキシジャス

モン酸、好ましくは1~5ppmとを添加し、さらに3~4週間培養すると細胞シートの下に塊茎が形成誘導されるのである。

同様に、細胞シートの培養中に、アスコルビン酸100~5000ppm、好ましくは500~2000ppmとジャスモン酸誘導化合物0.3~12ppm、好ましくは1~5ppmとサイトカイニン誘導化合物0.3~10ppm、好ましくは1~5ppmを添加し、さらに3~4週間培養すると細胞シートの下に塊茎が形成誘導されるのである。

(実施例)

馬鈴薯切片を組織培養する培養地として、第1表に示す組成を有するリンスマイヤー-スケーグ(Linsmaier & Skoog)培養地(以下、「L5培養地」と略称する。)を用いた。

第1表 L5培養地組成 (mg/l)

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
KNO_3	1,900	NH_4NO_3	1,650
KH_2PO_4	170	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
Na_2EDTA	37.3	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3

Best Available Copy

特開平2-82220(公)

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.4	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
$CoCl_2 \cdot 4H_2O$	0.025	KI	0.53
H_2SO_4	6.2	$Na_2MoO_4 \cdot 9H_2O$	0.25
シロキシン	30,000	エチノール	100
硫酸ナトリウム	0.4		

培養培地は、直径2.2cm、高さ1.5cmの管ビン中にシロキシン10mlを入れ、20℃で培養条件でも同様に培養し、平均直径1.2cmの無菌シュートを形成した。無菌シュートを摘取して得た切片を、さらに、同様の条件下で培養を繰り返して、供試無菌シュートを必要数作成した。

このようにして得た無菌シュートの管ビン中に、予め第3表に示す組成に調整した水溶液各100μlを添加した。さらに、20℃で培養条件に置き、2週間後及び4週間後に培養の形成度を調べた。

(以下略)

第3表 培養後の形成度

	2週間後	4週間後
本発明区1	2.1	3.2
本発明区2	1.7	2.6
本発明区3	2.0	2.7
本発明区4	2.1	3.2
本発明区5	2.0	3.1
参照使用区		
7-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-2H-ベンゾ[1,2-b:4,3-b']ピリジン-6-カルボン酸	0	0.3
12-β-D-グルコピラノシロキシ-ジヤスモン酸	0	0
メチルジヤスモン酸	0	0.2
ジヤスモン酸	0	0
6-ヒドロキシ-ジヤスモン酸	0	0
4-ヒドロキシ-ジヤスモン酸	0	0.1
参照使用区	1.8	2.3

(注) 1. 形成度は、いずれも10回反復の平均値。

2. 本発明区の培地には、いずれもアスコルビン酸1000ppmを含有するとともに、

第3表 調整した水溶液の組成(100μl中)

	アスコルビン酸	β-D-グルコピラノシロキシ化合物 (化合物名: 添加量)	参照使用区
本発明区1	10mg	12-β-D-グルコピラノシロキシ-ジヤスモン酸: 38.8μg	0.3
本発明区2	10mg	メチルジヤスモン酸: 22.4μg	0.2
本発明区3	10mg	ジヤスモン酸: 21.0μg	0.0
本発明区4	10mg	6-ヒドロキシ-ジヤスモン酸: 21.2μg	0.1
本発明区5	10mg	4-ヒドロキシ-ジヤスモン酸: 22.4μg	2.5μg

参照区は、1-β-D-グルコピラノシロキシ-ジヤスモン酸、メチルジヤスモン酸、ジヤスモン酸、6-ヒドロキシ-ジヤスモン酸及びカイネチンをそれぞれ参照に、同様にして添加した参照使用区及び本発明区に、同様に調整した培地に、無菌シュートを移植した結果を調べた。結果は、いずれも同一とした。

その結果を第3表に示す。

本発明区1には、12-β-D-グルコピラノシロキシ-ジヤスモン酸38.8ppm、本発明区2には、メチルジヤスモン酸22.4ppm、本発明区3には、ジヤスモン酸21.0ppm、本発明区4には、6-ヒドロキシ-ジヤスモン酸21.2ppm、本発明区5には、4-ヒドロキシ-ジヤスモン酸22.4ppm及びカイネチン2.5ppmを含有する。

第3表から明らかな通り、本発明区1～5は、いずれも2週間及び4週間後の培養形成度で、参照使用区を上回り、優れた培養形成度があることを示した。参照使用区は、いずれも培養をほとんど形成しなかった。

(尚書)

本発明の高純度培養形成誘導剤及びその培養形成誘導方法によって、高純度の植物の組織培養が可能である。

特許出願人 日本たばこ産業株式会社

特開平 2-82220 (4)

第 1 頁の続き

④Int. Cl.⁷
 A 01 N 37/42
 O 12 N 9/04
 A 01 G 1/00
 (A 01 N 37/42
 37:35)

識別記号

庁内整理番号

6779-4H
 3 0 1 Z 8602-2B
 6779-4H

Best Available Copy